



УДК 615.454.811.014.015

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА ФЛАВОНОИДОВ В КОМПЛЕКСНЫХ ФИТОПРЕПАРАТАХ

М.А. Огай<sup>1</sup>

Э.Ф. Степанова<sup>2</sup>

Л.П. Ларионов<sup>3</sup>

А.Ю. Петров<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Воронежский государственный университет

<sup>2</sup> Никитинская государственная фармацевтическая академия

<sup>3</sup> Уральская государственная медицинская академия, г. Екатеринбург

e-mail: marinfarm@yandex.ru

Поиск средств или их комбинаций, обладающих комплексным профилактическим и терапевтическим потенциалом – актуальная проблема. Предложены составы фитопрепаратов – фитогелей 1 и 2 на основе комплексных извлечений из лекарственного растительного сырья, обладающих ранозаживляющей активностью и предложены методики стандартизации – методами ТСХ и СФ. Для количественного определения суммы флавоноидов в фитогелях 1 и 2 была изучена возможность использования метода спектрофотометрии.

Ключевые слова: фитопрепараты, фитогели, флавоноиды, аллоксановый диабет.

В настоящее время первостепенное внимание уделяется поиску средств или их комбинаций, обладающих комплексным профилактическим и терапевтическим потенциалом [1].

В последние десятилетия наблюдается повышенный интерес к лекарственным препаратам, получаемым из растительного сырья. Эта тенденция перспективно развивается в странах, традиционно использующих лекарственное растительное сырье в большом ассортименте (Китай, Корея, Вьетнам, Индия и др.), а также в странах, имеющих большие возможности для химического синтеза лекарственных соединений (США, Япония и др). Возрастающие требования к качеству лекарственных средств, в том числе на основе сырья растительного происхождения, вызвало необходимость разработки более совершенных методов и методик стандартизации фитопрепаратов. Эта задача может быть решена с использованием основных классов действующих веществ, входящих в состав готовой лекарственной формы, таких как флавоноиды, сапонины, органические кислоты и др.

Проблема качественного и количественного определения (В.В. Дячок и соавторы, 2004) всех составляющих является достаточно сложной задачей и с точки зрения выбора аналитического метода, и его инструментального оформления. Комплексные фитопрепараты были до недавнего времени мало представлены с точки зрения качественного и количественного определения.

Объективно обоснованным решением задач такого типа является определение действующих веществ по наиболее весомому или характерному составляющему компоненту (например, флавоноидов по рутину или кверцетину).

**Методы исследования.** В состав разработанных фитогелей входили спиртовые извлечения из лекарственного растительного сырья. Фитогель 1 включает спиртовое извлечение из зверобоя продырявленного, прополис и облепиховое масло, и вспомогательные вещества; фитогель 2 – спиртовые извлечения из лавра благородного, эхинацеи пурпурной, солодки голой, донника лекарственного, сок алоэ, индивидуальный препарат таурин и комплекс вспомогательных веществ. Фитогель-1: смешивали спиртовое извлечение зверобоя, настойку прополиса, облепиховое масло (комплексное извлечение 1). В качестве основы использовали сплав ПЭГ-400 и ПЭГ-1500. Фитогель-2: смешивали спиртовые извлечения эхинацеи, лавра, донника и солодки (комплексное извлечение 2), сок алоэ и таурин и вводили в основу – сплав ПЭГ-400 и ПЭГ-1500. Ранее была доказана ранозаживляющая активность разработанных гелей, у животных с экспериментальной патологией – аллоксановым диабетом [2].



Для качественного анализа индивидуальных и комплексных спиртовых извлечений использовали метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) [3]. Фитохимическое исследование проводили путем экстрагирования образцов сырья 40% этиловым спиртом с последующим хроматографированием в тонком слое сорбента (система – н-бутанол: ледяная уксусная кислота: вода = 5:1:1). На линию старта пластинки фирмы «Sorbfil» размером 10x10 см со слоем силикагеля марки СТХ-1А (УФ индикатор – УФ-254) наносили микропипеткой по 30 мкл спиртовых извлечений из зверобоя, прополиса, эхинацеи, лавра, донника, солодки, комплексные извлечения 1 и 2, а также 10 мкл 1% раствора свидетеля – рутина. Хроматографическую пластинку помещали в камеру, которую предварительно насыщали парами элюэнта в течение 6 ч, а затем хроматографировали восходящим способом. Когда фронт элюэнта проходил фронт 10 см, пластинку вынимали, сушили на воздухе до исчезновения запаха растворителей и рассматривали в видимом и УФ-свете при длине волны 254 нм. В видимом свете обнаружены зоны желтого цвета, в УФ-свете они проявляются в виде пятен с синей флуоресценцией. Затем пластинки опрыскивали 0,1%-м раствором ванилина в концентрированной серной кислоте, нагревали 3 мин при 80 °С и рассматривали в видимом свете. На хроматограмме обнаружены зоны, для которых значения  $R_f$  совпадают с таковыми для рутина ( $R_f=0,31$ ).

Спектрофотометрический анализ (СФ) используется для установления качественного и количественного состава, подлинности лекарственных средств, определения степени их чистоты. СФ характеризуется чувствительностью и высокой точностью. Данный метод анализа используют для количественного определения ингредиентов в одно- и многокомпонентных составах. В последних, в том случае, если спектр поглощения анализируемого компонента имеет участок, свободный от наложения светопоглощения мешающих ингредиентов (либо поглощение очень мало, что ими можно пренебречь).

Для количественного определения суммы флавоноидов в фитогелях 1 и 2 была изучена возможность использования метода спектрофотометрии (СФ) на приборе СФ-46 ломо [4, 5].

Для спектрофотометрического анализа количественного содержания суммы флавоноидов нами исследованы спектры поглощения фитогелей 1 и 2, основы (сплав ПЭГ-400 и ПЭГ-1500) и раствора РСО рутина в комплексе с  $AlCl_3$ .

Максимумы поглощения окрашенных продуктов реакции суммы флавоноидов с  $AlCl_3$  представлены в табл. 1.

Таблица 1

**Максимумы поглощения окрашенных продуктов реакции суммы флавоноидов с  $AlCl_3$**

Исследуемый образец	Максимум поглощения, нм
РСО рутина	411 ± 2 нм
Фитогель 1	411 ± 3 нм
Фитогель 2	411 ± 3 нм
Основа (сплав ПЭГ-400 и ПЭГ-1500)	Нет максимума

Спектр поглощения основы не имеет максимума и соответственно не накладывается на спектр комплексного фитопрепарата, им можно пренебречь. Полученные спектры изображены на рис. 1.

Флавоноиды в комплексном извлечении 1 и 2 стандартизировали по рутину с использованием цветной реакции с  $AlCl_3$  в этанольной среде. Для проведения анализа сначала диализировали фитогели 1 и 2 по следующей методике: 1 г фитогеля (точная навеска) растворили в 10 мл спирта этилового 70%, экстрагировали в течении 20 минут, фильтровали. Полученный фильтрат помещали в коническую мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 10 мл 70% спирта этилового и 3 мл 5% раствора алюминия хлорида спиртового, нагревали на кипящей водяной бане в течение 10 мин, Охлаждали до комнатной температуры, прибавляли 0,1 мл кислоты уксусной ледяной, пе-



ремешивали и фильтровали через фильтр «синяя лента» в мерную колбу вместимостью 25 мл, ополаскивали фильтр и колбу 70% спиртом этиловым, доводили объем раствора тем же спиртом до метки, перемешивали и проводили определение.

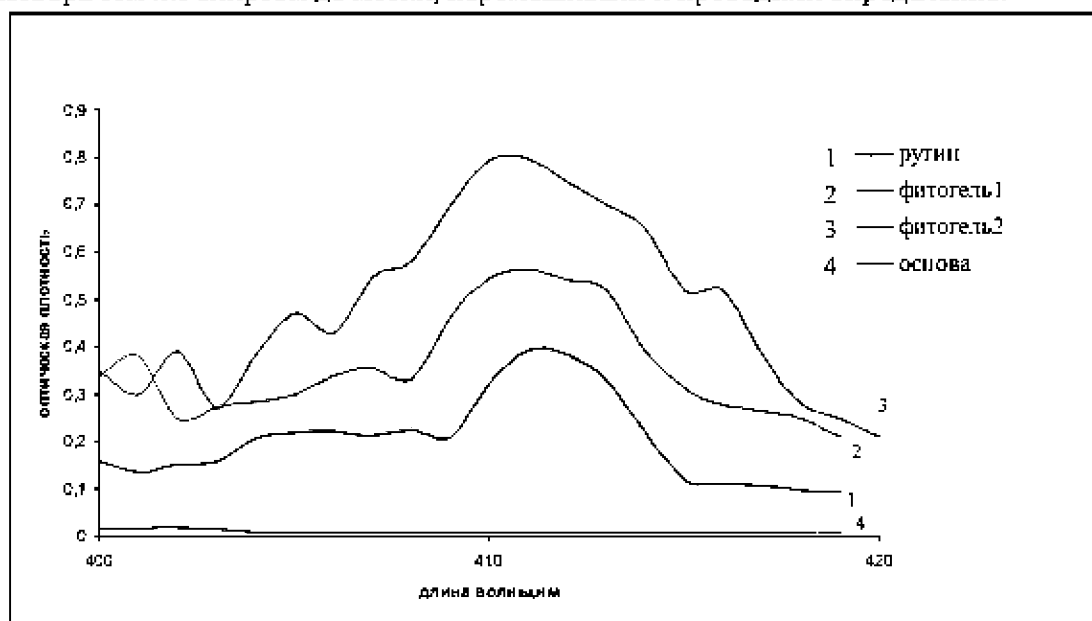


Рис. 1. Спектры поглощения РСО рутина, фитогеля 1 и 2, гелевой основы

Измеряли также оптическую плотность раствора РСО рутина, приготовленного по методике, предложенной ГФ XI издания: 0,0250 г рутина, предварительно высушенного при температуре 135 °С до постоянной массы, растворяли в 10 мл горячего абсолютного спирта, переносили в мерную колбу на 250 мл с помощью сухого ацетона, доводили объем раствора тем же ацетоном до метки и измеряли оптическую плотность –  $D_{ст}$  (0,393).

Содержание суммы флавоноидов (X) в 1 г препарата, в пересчете на рутин, в процентах, вычисляли по формуле:

$$X = \frac{D \cdot a_{ст} \cdot W_1}{D_{ст} \cdot a_1 \cdot W_{ф}} \cdot 100\%,$$

где  $D$  – оптическая плотность испытуемого раствора;

$D_{ст}$  – оптическая плотность раствора рабочего СО рутина;

$a_{ст}$  – масса навески СО рутина, г;

$a_1$  – масса навески мази, г;

$W_1, W_{ф}$  – разведения навески мази и навески СО рутина соответственно.

Результаты определения содержания суммы флавоноидов в фитогелях 1 и 2 в пересчете на рутин приведены в табл. 1 и 2 соответственно:

Таблица 2

Результаты определения содержания суммы флавоноидов в фитогеле 1 в пересчете на рутин

№ п/п	$D_1$	X, %	Метрологические характеристики
1	0,563	0,358	$X_{ср} = 0,361$ ;
2	0,573	0,364	$\Delta X_{ср} = 0,0015$ ;
3	0,568	0,361	$X = 0,361 \pm 0,0015$ ;
4	0,569	0,362	$S = 0,00219$ ;
5	0,565	0,359	$S_x = 0,000894$ ;
6	0,570	0,362	$\xi_{ср} = 0,415\%$



Таблица 3

**Результаты определения содержания суммы флавоноидов  
в фитогеле 2 в пересчете на рутин**

№ п/п	D <sub>i</sub>	X, %	Метрологические характеристики
1	0,791	0,503	$\bar{X}_{cp} = 0,507;$
2	0,793	0,504	$\Delta X_{cp} = 0,00167;$
3	0,798	0,508	$X = 0,507 \pm 0,00167;$
4	0,798	0,508	$S = 0,0338;$
5	0,795	0,506	$S_x = 0,0142;$
6	0,796	0,507	$\xi_{cp} = 0,329\%$

Таким образом, нами были предложены составы фитопрепаратов – фитогелей 1 и 2 на основе комплексных извлечений из лекарственного растительного сырья и предложены методики стандартизации – методами ТСХ и СФ. На хроматограмме обнаружены зоны, для которых значения  $R_f$  совпадают с таковыми для рутина.

Для количественного определения суммы флавоноидов в фитогелях 1 и 2 была изучена возможность использования метода спектрофотометрии. Содержание флавоноидов, в пересчете на рутин в фитогеле 1 составило 0,361%, а в фитогеле 2 – 0,507%.

#### Литература

1. Растительные флаволигнаны. Биологическая активность и терапевтический потенциал / С.В. Луценко [и др.]. – Москва, 2006. – 236 с.
2. Огай, М.А. Фармакологические исследования и технология фитогелей для коррекции последствий сахарного диабета / М.А. Огай, Э.Ф. Степанова, Л.П. Ларионов, А.Ю. Петров // Журн. "Вестник Воронежского государственного университета". Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2009. – № 2. – С. 171-173.
3. Клышев, Л.К. Флавоноиды растений (распространение, физико-химические свойства, методы исследования) / Л.К. Клышев, В.А. Бандюкова, Л.С. Алюкина. – Алма-Ата: Наука, 1978. – 220 с.
4. Беликов, В.В. Реакции комплексообразования в анализе флавоноидов / В.В. Беликов, Т.В. Точкова // Всесоюз. Симпоз. по фенольным соединениям (2; 1971; Алма-Ата). – Алма-Ата: тез. докл. ... 1973. – С. 168-172.
5. Беликов, В.В. Методы анализа флавоноидных соединений / В.В. Беликов, М.С. Шрайбер // Фармация. – 1970. – Т. 19, № 1. – С. 66-72.

### IDENTIFICATION AND QUANTIFICATION OF FLAVONOIDS IN PHITOPREPARATION COMPLEX

**M.A. Ogai<sup>1</sup>**

**E.F. Stepanova<sup>2</sup>**

**L.P. Larionov<sup>3</sup>**

**A.J. Petrov<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> *Voronezh State University,  
Voronezh*

<sup>2</sup> *Pyatigorsk State  
Pharmaceutical Academy,  
Pyatigorsk*

<sup>3</sup> *Ural State Medical Academy  
Yekaterinburg, Ekaterinburg*

*e-mail: marininform@yandex.ru*

Search for vehicles or combinations of them with comprehensive preventive and therapeutic potential is the actual problem. Requested to formulate herbal remedies – fitogely 1 and 2 on the basis of complex extracts from medicinal plants, having wound healing activity, and proposed methods of standardization – by TLC and SF. To quantify the amount of flavonoids in fitogelyah 1 and 2 was explored using the method of spectrophotometry.

**Key words:** herbal medicine, fitogeli, flavonoids, alloxan diabetes.